

## СИСТЕМА БІОТЕСТУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ ҐРУНТУ, ЗАБРУДНЕНОГО ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

**Т. Ф. Яковишина**, к.с.-г.н., доцент, Придніпровська державна академія будівництва та архітектури

*Розроблена система біотестування токсичності ґрунту, забрудненого важкими металами, тест-реакціяма якої є довжина кореня, висота проростку та суха біомаса віса посівного; обростання ґрудочок ґрунту Azotobacter, активність каталази, дегідрогенази та уреазы. Визначено токсичність ґрунтів урбоєкосистеми та агроландшафту.*

*Ключові слова:* біотестування, важкі метали, токсичність, ґрунт.

**Постановка проблеми.** Біотестування – універсальний метод, який дає змогу отримати за реакцією живих організмів інтегральну токсикологічну характеристику комплексного забруднення ґрунтів ксенобіотиками з урахуванням синергічної та антагоністичної дії між ними, що в умовах поліелементного забруднення має велике практичне значення для агроландшафтів та урбоєкосистем. Визначення забруднення ґрунту важкими металами (ВМ) (валовий вміст та рухомі форми) аналітичними методами, на жаль, не дає повної інформації щодо зниження родючості, приміром за розрахунком бонітету, та рівня його небезпеки для рослин і ґрунтової мікробіоти. Традиційно для біотестування токсичності ґрунту використовували вищі рослини, а саме: овес, крес-салат, редис, цибулю, квасолю, тобто першу ланку трофічного ланцюга в системі “ґрунт – рослини – тварини – людина”. Проте, мікроорганізми і ферменти ґрунту беруть участь у синтезі і розкладанні органічної речовини, колообігу макро- і мікроелементів, трансформації техногенних забруднювачів. Тісний взаємозв'язок між біологічною активністю і родючістю дозволяє її використовувати в якості індикаторного показника, як для діагностики безпосередньо родючості ґрунту, так і для визначення техногенного впливу, а також ефективності заходів щодо його відновлення. Тому розробка і використання комплексної системи біотестування токсичності ґрунту забрудненого ВМ, яка відображає не тільки реакцію вищих рослин на забруднення, а й інтенсивність протікання основних мікробіологічних процесів, що відповідають за його родючість, є актуальним науково-практичним завданням в умовах техногенного навантаження в наслідок забруднення ВМ навколишнього середовища.

**Аналіз останніх публікацій.** В теперішній час існує декілька підходів до тестування ґрунту залежно від напрямку оцінки його екологічних функцій, а саме: забезпечення рослин поживними речовинами – в рослинництві; рівня токсичності при забрудненні ксенобіотиками урбанізованих територій. Альгологічні методи визначення токсичності [1] себе не виправдовують, адже вони не дають повної інформації щодо небезпечності забруднення, впливу його на родючість та життєдіяльність ґрунтових організмів, тому що більшість з них, як тест-культури, використовує

тільки вищі рослини. Для екологічної оцінки біогенності ґрунтів Д.Г.Звягінцевим (1978) були виділені три групи індикаторних показників: 1 – чисельність основних груп мікроорганізмів, де особливу увагу приділено амоніфікуючим бактеріям, які здійснюють первинну мінералізацію органічних азотмістких сполук; 2 – фізична активність ґрунтової мікрофлори, яка оцінюється за інтенсивністю виділення CO<sub>2</sub> і азотфіксуючою здатністю; 3 – ферментативну активність за шкалою, що включає три гідролітичних (інвертаза, уреаз, фосфатаза) і два окислювально-відновних (каталаза і дегідрогеназа) ферментів. Проте виникають деякі проблеми при оцінці чисельності основних фізіологічних груп мікроорганізмів, яка може змінюватися в 2-4 рази залежно від сезону року. В.П.Кучерявим (2000) для діагностики стану техногенно забруднених ВМ ґрунтів запропоновано використовувати загальну біологічну активність, яка опосередковано відбивається через інтенсивність виділення CO<sub>2</sub> в процесі життєдіяльності мікроорганізмів (в першу чергу грибів – 2/3 від загальної кількості CO<sub>2</sub> і в меншій мірі бактерій), а також дихання кореневих систем рослин [2]. Проте, даний показник не відображає змін всередині ґрунтового мікробіоценозу, в той час як, добре відомо пригнічення фосформобілізуючих, кислототворюючих і бактерій, які засвоюють мінеральний азот, на фоні збільшення чисельності бактерій, котрі засвоюють азот органічних сполук, та мікроскопічних грибів в результаті токсичної дії ВМ. Крім того, виникає необхідність у комплексній оцінці рівня забруднення ВМ і заходів щодо їх детоксикації, для якої В.Ф. Вальков, К.Ш. Казеев і С.І. Колесніков (2001) рекомендують використовувати інтегральний показник біологічного стану (ІПБС) [3]. В даний час він розраховується за наступними факторами: кількість бактерій роду Azotobacter, які традиційно й успішно використовують як біоіндикатор хімічного забруднення ґрунту; каталазна, дегідрогеназна і целюлозолітична активність для відображення інтенсивності різних біологічних процесів у ґрунті; довжина коренів чутливої до дії ВМ рослини, котра свідчить про фітотоксичність. Проте здається доцільним прослідкувати як відбивається токсичний ефект ВМ на рослині в цілому, а саме, вибрати за тест-функції не тільки довжину кореня, а й висоту проростку та приріст біомаси та замість целюлозолі-

тичної активності визначати активність уреаз, як більш чутливого ферменту. Крім того, виникає потреба в нормуванні ІПБС [4], а не тільки в порівнянні отриманих значень з контролем. Розроблена система біотестування ґрунту забрудненого ВМ повинна бути універсальною і включати показники, як ті, що відповідають за токсичність, насамперед, для першої ланки трофічного ланцюга – рослин, так і ті, що визначають його родючість.

**Мета роботи** полягала в розробці системи біотестування токсичності ґрунту, забрудненого ВМ та опробування її на чорноземі звичайному малогумусному важкосуглинковому з різним рівнем техногенного навантаження.

**Об'єкти та методи досліджень.** Досліджувани ґрунти були представлені: 1) чорноземом звичайним малогумусним важкосуглинковим, який сформувався на лесі під різнотравно-типчаково-ковильною рослинною асоціацією в умовах непримивного водного режиму (контроль); 2) антропогенно трансформованим ґрунтом у наслідок акумулятивних техногенних навантажень у вигляді артиндустратів з групи артифабрикатів – хемоземом степовим чорноземним лесовидним малогумусним, важкосуглинковим за Л.В. Єстеревською (1987) та Р.М. Панасом (2009); 3) чорноземом звичайним після проведення хімічної детоксикації ВМ за рахунок внесення, як меліоранту,  $K_2CO_3$ .

Валовий вміст ВМ та мікроелементів в забрудненому чорноземі звичайному малогумусному важкосуглинковому становив: Zn – 38,8; Mn – 473,0; Cu – 12,5; Co – 8,1; Fe – 845,0; Pb – 32,4; Cd – 0,38 мг/кг ґрунту і, відповідно, рухомих форм, що складають невеликий відсоток від валових: рухомого Zn – 0,96; Cu – 0,12; Co – 0,42; Mn – 57,5; Fe – 27,6; Pb – 0,05; Cd – 0,10 мг/кг. Хімічну детоксикацію карбонатом калію, направлену на зв'язування рухомих форм ВМ в недоступні для кореневої системи рослин сполуки, здійснювали на рівнях забруднення в 5 ГДК по Zn, Pb і Cd. Після проведення заходів з детоксикації чорнозем звичайний в орному шарі містив рухомих форм Zn – 206,1; Pb – 82,9; Cd – 7,64 мг/кг ґрунту, що становило майже 50 % від валового вмісту. Хемозем, внаслідок складування на його поверхні шлаку, був забруднений Mn –

1683,4; Fe – 2874,3; Pb – 154,6; Cd – 9,4; Cu – 46,8; Co – 17,9 мг/кг ґрунту, при рухомості близько 70 % від валового вмісту.

Валові та рухомі форми ВМ у ґрунті визначали за допомогою атомно-абсорбційних спектрофотометрів ASS-1 і С-115М1, бактерії роду *Azotobacter* – методом ґрунтових грудочок на середовищі Ешбі; ферментативну активність за методом А.Ш. Галстяна; як тест-культуру використовували овес посівний, тест-реакціями якого виступали довжина кореня, висота проростку та приріст біомаси. Для успішного проведення біотесту і отримання відтворюваних даних перед початком перевіряли схожість насіння. Повторність досліду 4-х разова. Нормування ІПБС здійснювали шляхом розрахунку індексу токсичності факторів (ІТФ) за шкалою Р.Р.Кабірова (1997).

$$ITF = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{TP_n^d}{TP_n^k}$$

де  $TP_n^d$  – тест-реакція в досліджуваного варіанту;  $TP_n^k$  – тест-реакція контрольного варіанту.

**Результати та їх обговорення.** Із проаналізованих ферментів дегідрогеназа найбільш гостро реагувала на забруднення ВМ, так її активність на хемоземі знижувалась до 54 % порівняно до контролю (табл. 1). Після проведення детоксикації на забрудненому чорноземі, який використовувався в сільськогосподарському виробництві, активність ферменту підвищувалась, що пояснюється виділенням з корневими ексудатами рослин вуглеводів, спиртів, амінокислот, вітамінів, які сприяють збільшенню кількості мікроорганізмів в кореневій зоні, а ті, в свою чергу, продукують ферменти, котрі каталізують руйнування ксенобіотиків. Каталаза – гемінфермент, який відповідає за відщеплення води від перекису водню, виявляється більш стійкою до ВМ, так, її активність знижувалась не більше, ніж на 35% в умовах забруднення. Визначення уреаз давало змогу оцінити забезпеченість рослин доступними формами азоту, так в антропогенно трансформованому ґрунті цей показник знижувався, а використання як меліоранта  $K_2CO_3$  на забрудненому чорноземі звичайному сприяло його підвищенню майже до контрольного варіанту (табл. 1).

Таблиця 1

**Токсичність забруднених ВМ ґрунтів урбоєкосистеми та агроландшафту**

Тест-функції	ґрунт			НСР <sub>0,95</sub>	Р, %
	1	2	3		
Обростання грудочок ґрунту <i>Azotobacter</i> , %	87	43	68	4	0,87
Каталаза, мг O <sub>2</sub> на 1 г ґрунту за 1 хвилину	7,51	4,86	5,29	0,21	0,63
Дегідрогеназа, ТФФ на 10 г ґрунту за 24 години	2,54	1,17	1,39	0,12	0,28
Уреаза, мг N <sub>2</sub> на 10 г ґрунту за 24 години	4,20	3,61	4,08	0,21	0,39
Довжина кореня вівса посівного на 10 добу, см	9,6	5,5	6,2	0,5	0,41
Висота проростку вівса посівного на 10 добу, см	12,7	8,0	9,7	0,6	1,12
Суша біомаса вівса посівного, г	0,55	0,45	0,48	0,02	0,31
ІТФ	-	0,64	0,75		

Примітка: 1 – чорнозем звичайний, незабруднений ВМ, (контроль); 2 – хемозем; 3 – чорнозем звичайний, забруднений ВМ, після проведення детоксикації.

Функціональна роль бактерій роду *Azotobacter* в ґрунтовому мікробіоценозі полягає, по-перше, в стимуляції росту та розвитку рослин за рахунок фіксації молекулярного азоту, синтезі біологічно активних речовин і деяких фітогормонів, в тому числі і ауксинів; а, по-друге, в самоочищенні ґрунтів, адже достеменно відомо, що екзополісахариди представників цього роду беруть участь у мобілізації ВМ. За умов техногенного навантаження (хемозем) вміст азотфіксаторів зменшилася практично в 2 рази, а після застосування, як меліоранту,  $K_2CO_3$  для усунення токсичності ВМ хоча й підвищився, проте контрольного значення незабрудненого ґрунту не досягав.

Виступаючи в якості тест-функції, яка свідчить про рівень забруднення, коренева система вівса посівного, в першу чергу, відчувала на собі токсичну дію ВМ, що проявлялось в зменшенні довжини кореня на 35-43 % та сприяло виникненню цілого ряду вторинних ефектів, таких як гормональний дисбаланс, порушення фотосинтезу, транспірації, біосинтезу білку, мінерального живлення [3], пересування фотосиміляторів, і, як наслідок, призводило до гальмування росту і розвитку рослин. Інгібування росту проростку відбувалось в меншій мірі до 24-37 % від контролю, що пояснюється акропетальним розподіленням хімічних елементів у злаків та наявністю захисних механізмів, а саме: компартаментацією в клітинних стінках або вакуолях; реакцією з тіолмісткими білками, пептидами та органічними кислотами; детоксикацією за рахунок меркаптидних комплексів при зв'язуванні металотіонеїнами та фітохелатинами; розвитком альтернативних адаптивних реакцій. Суха біомаса рослин, вироще-

них на хемоземі та забрудненому чорноземі звичайному після проведення хімічної детоксикації знижувалась всього на 12-18 %, що пояснюється накопиченням ВМ та їх значною атомною масою.

Значення ІТФ, розраховані за вище наведеними тест-реакціями, свідчили про середній рівень токсичності хемозему та низький – для чорнозему звичайного після проведення детоксикації.

**Висновки.** 1. Розроблена система біотестування токсичності ґрунту, забрудненого ВМ за рахунок включення до її складу вівса посівного, *Azotobacter*, активності каталази, дегідрогенази та уреази дає змогу оцінити не тільки рівень забруднення, а й ґрунтову родючість. 2. Опробування системи біотестування показало, що хемозем, як антропогенно трансформований ґрунт у наслідок акумулятивних техногенних нанесень, котрі містять у своєму складі ВМ, мав середню токсичність, а здійснення заходів з хімічної детоксикації за рахунок зв'язування катіонів металів  $K_2CO_3$  сприяє не тільки зниженню їх рухомості, а й відновленню екологічних функцій ґрунту, яке відбивається на ферментативній активності та збільшенні ростових показників досліджуваної рослини.

Перспективи подальших досліджень потрібно зосередити, по-перше, на пошуку тест-організмів для визначення токсичності ґрунтів, забруднених нафтопродуктами, радіонуклідами, поверхнево-активними речовинами, пестицидами, тощо, а по-друге на створенні комплексної системи біотестування, яка б включала індикатори на найбільш розповсюджені забруднювачі і давала відповідь на їх сумісну дію.

#### **Список використаної літератури:**

1. Пароменская Л. Н. Альгологический метод определения фитотоксичности почв / Л. Н. Пароменткая, Н. Г. Гаранкина, И. Г. Моисеева, Ю. В. Круглова // Почвоведение. – 2001. – № 6. – С. 708-712.
2. Рідей Н. М. Методика досліджень біохімічного зв'язування вуглицю вуглекислоти ґрунту і ґрунтового повітря гетеротрофною мікрофлорою чорнозему типового / Н. М. Рідей // Агроекологічний журнал. – 2002. – №1. – С. 72–76.
3. Вальков В. Ф. Методология исследования биологической активности почв на примере Северного Кавказа / В. Ф. Вальков, К. Ш. Казеев, С. И. Колесников // Научная мысль Кавказа. – 1999. – №1. – С. 32-37.
4. Кабиров Р. Р. Разработка и использование многокомпонентной тест-системы для оценки токсичности почвенного покрова городской территории / Р. Р. Кабиров, А. Г. Сагитова, Н. В. Суханов // Экология. – 1997. – № 6. – С. 408-411.

### **СИСТЕМА БИОТЕСТИРОВАНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ**

**Т.Ф. Яковишина**

*Разработана система биотестирования токсичности почвы, загрязненной тяжелыми металлами, тест-реакциями которой выступают длина корня, высота проростка и сухая биомасса овса посевного; обрастание комочков почвы *Azotobacter*, активность каталазы, дегидрогеназы и уреазы. Определена токсичность почв урбоекосистемы и агроландшафта.*

*Ключевые слова:* биотестирование, тяжелые металлы, токсичность, почва.

### **BIOTESTING SYSTEM OF THE TOXICITY OF THE SOIL CONTAMINATED BY THE HEAVY METALS**

**T.F. Yakovyshyna**

*Biotesting system of the toxicity of the soil contaminated by the heavy metals has been worked out with test-reactions: root length, height and dry biomass of the oat; fouling of the soil aggregates by the *Azotobac-**

ter, activity of the catalase, dehydrogenase and urease. Soil toxicity has been determined for urboecosystem and agrolandscape.

Keywords: biotesting, heavy metals, toxicity, soil.

Дата надходження до редакції: 16.04.2014 р.

Рецензент: Е.А. Захарченко

УДК 631.416.8:631.445.4

## ФІТОТОКСИЧНІСТЬ Cu, Pb, Cd і Zn ДЛЯ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР - ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИНИ BRASSICACEAE

Ю. А. Білявський, к.с.-г.н., доцент

Т. М. Мислива, к.с.-г.н., доцент

Житомирський національний агроекологічний університет

Оцінено вплив моно- та поліметалічного забруднення Cu, Pb, Cd і Zn у концентраціях, еквівалентних 1, 5, 10 і 15 ГДК кожного, на фітотоксичність дерново-підзолистого ґрунту для представників родини Brassicaceae. Встановлено, що сильна токсичність дерново-підзолистого ґрунту для представників цієї родини проявляється при концентрації забруднювачів на рівні 10–15 ГДК (за включенням дайкону, оскільки його пригнічення викликало поліелементне забруднення, еквівалентне 5 ГДК). Навіть низькі концентрації поллютантів спричиняють зниження інтенсивності росту рослин за умови їх сумісного внесення. За толерантністю до поліелементного забруднення представники родини Brassicaceae розміщуються у наступний спадаючий ряд: капуста червоноголова > капуста броколі > дайкон. Ввідносно нетоксичним для представників досліджуваної ботанічної родини є Pb, Cd займає проміжне положення, а Cu і Zn найсильніше проявляють свої токсичні властивості.

Ключові слова: важкі метали, забруднення, ґрунт, фітотоксичність, овочеві культури.

**Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями.** Рослинний покрив є потужним біогеохімічним бар'єром, який концентрує забруднювальні речовини, що надходять у довілля, зокрема важкі метали. Вплив важких металів на систему «ґрунт – рослина» залежить від ряду чинників: виду і хімічних властивостей забруднювача, форм сполук важких металів у ґрунті і особливостей їх трансформації, гранулометричного складу і фізико-хімічних та агрохімічних властивостей ґрунту, біологічних та фізіологічних особливостей рослин, їх фенологічної фази розвитку, віку тощо. Для пошуку засобів захисту рослин від негативного впливу важких металів в умовах посилення техногенно-антропогенного впливу на довкілля та зменшення рівня їх накопичення у сільськогосподарській продукції необхідним стає вивчення механізмів надходження останніх до рослинного організму та їх фітотоксичної дії. Сстійкість рослин до токсичної дії важких металів індивідуальна, вона являється генетично закріпленою ознакою, що є надзвичайно важливим при виведенні нових сортів для отримання екологічно безпечних врожаїв на забруднених ґрунтах.

### **Аналіз останніх досліджень і публікацій.**

Потрапляючи з ґрунту в рослинні організми у надмірних кількостях, важкі метали порушують у них обмін речовин, що негативно позначається на показниках росту і розвитку рослин, особливо на початкових етапах [4 - 6 та ін.]. Саме цю особливість використовують при біотестуванні забру-

дненого ґрунту для встановлення його фітотоксичності, під якою розуміють зниження тест-функцій, що знімаються з рослинного тест – об'єкта на досліджуваному ґрунті, в порівнянні з контролем [6]. Питання впливу різних мікроелементів на ріст і розвиток рослин вивчається дуже давно й досить широко [3, 4, 8, 12 та ін.]. Зокрема, оцінці впливу свинцю та кадмію на фітотоксичність ґрунту для ячменю ярого присвячені дослідження [9], впливу кадмію та свинцю на мітотичну активність клітин у кореневих меристемах злакових трав та фітотоксичність заліза і хрому для інтродукованих декоративних рослин – роботи [1, 2], оцінці фітотоксичної активності солей важких металів для цибулі городньої – дослідження [7]. Впливу моно- та поліелементного забруднення важкими металами на фітотоксичність дерново-підзолистого ґрунту для окремих представників ботанічних родин Poaceae, Fabaceae, Brassicaceae, Apiaceae, Amaranthaceae присвячені дослідження [5, 10, 11]. Однак, мало робіт присвячено дослідженню впливу на фітотоксичність ґрунту кількох елементів одночасно, коли можна оцінити їх сумісну дію, а також недостатньо вивчене питання токсичності важких металів для овочевих культур, зокрема представників ботанічної родини Brassicaceae.

**Формулювання цілей статті.** Зважаючи на вище наведене, нами було поставлено за мету: оцінити вплив моно- та поліметалічного забруднення Cu, Pb, Cd і Zn у концентраціях, еквівалентних 1, 5, 10 і 15 ГДК кожного, на фітотоксичність дерново-підзолистого ґрунту для представників